

④ 日本国特許序 (JP)

① 特許出願公開

② 公開特許公報 (A) 平2-92296

③ Int. Cl. *

C 12 P 19/14
 C 12 N 15/56
 /C 12 P 19/14
 C 12 R 1:126
 (C 12 N 15/56
 C 12 R 1:07)

識別記号

庁内整理番号

8214-4B

④ 公開 平成2年(1990)4月3日

審査請求 未請求 請求項の数 2 (全5頁)

⑤ 発明の名称 高純度マルトース及びその還元物の製造方法

⑥ 特 譲 昭63-242387

⑦ 出 願 昭63(1988)9月29日

⑧ 発明者 新見 弘 滋賀県牛久市牛久町701-28
 ⑨ 発明者 針生 ゆかり 静岡県富士市本町10-18 富士屋マンション3階A号室
 ⑩ 発明者 形浦 宏一 静岡県富士市中野490-17
 ⑪ 発明者 石井 良文 静岡県富士市大瀬3369-5
 ⑫ 発明者 加藤 和昭 埼玉県北葛飾郡吉川町中曾根477
 ⑬ 出願人 東和化成工業株式会社 東京都千代田区大手町2丁目1番2号
 ⑭ 代理人 弁護士 太田 夏一

明細書

1. 発明の名称

高純度マルトース及びその還元物の製造方法

2. 特許請求の範囲

(1) 斜粉を液化した後、ガーフミラーゼ、イソアミラーゼ、ブルタナーゼからなる群の中から選ばれる2種以上の酵素を使用して固形分中のマルトース純度を70重量%以上に調製した中に、バチルス・ステアロテモフィルス (*Bacillus stearothermophilus*) の遺伝子のマルトゲニックエー-アミラーゼがコードされた部分を組み込んだプラスミドをバチルス・ズブティリス (*Bacillus subtilis*) に組込んで生産されたマルトゲニックエー-アミラーゼを添加して次式

$$\frac{(\text{三糖以上のオリゴ糖の})}{(\text{二糖の})} \times 100 \leq 8$$

$$\frac{(\text{二糖の})}{(\text{三糖以上の})} \div \frac{(\text{オリゴ糖の})}{(\text{固形分重量})} \times 100 \leq 3$$

の数値を与えるまで液化することを特徴とする

高純度マルトースの製造方法。

即ち①液粉を液化した後、ガーフミラーゼ、イソアミラーゼ、ブルタナーゼからなる群の中から選ばれる2種以上の酵素を使用して固形分中のマルトース純度を70重量%以上に調製したものに、バチルス・ステアロテモフィルス (*Bacillus stearothermophilus*) の遺伝子のマルトゲニックエー-アミラーゼがコードされた部分を組み込んだプラスミドをバチルス・ズブティリス (*Bacillus subtilis*) に組込んで生産されたマルトゲニックエー-アミラーゼを添加して次式

$$\frac{(\text{三糖以上のオリゴ糖の})}{(\text{固形分重量})} \times 100 \leq 8$$

$$\frac{(\text{二糖の})}{(\text{三糖以上の})} + \frac{(\text{オリゴ糖の})}{(\text{固形分重量})} \times 100 \leq 3$$

の数値を与えるまで液化する第1工程、
 ②得られた液化物を還元する第2工程、
 上記2工程を逐次的に実施することを特徴とする
 高純度マルチトールの製造方法。

特開平2-92296(2)

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は高純度マルトース及びその還元物の製造方法に関するものである。

(発明の技術)

マルトース、即ち α -[α -D-グルコビラノシル]-D-グルコースは当量麦芽水飴の主成分として知られ、真實の風味を有するために広く食品に使用してきた。

一方、その還元物であるマルチトール、即ち α -[α -D-グルコビラノシル]-D-グルコトールも、微生物により発酵されにくくことや、砂糖に近い甘味質を有することなどの利点があることから、食品、化粧品、薬品などの分野で広範囲の用途に使用されている。

従来、高純度のマルトース又はマルチトールを得ることは、他の糖類の高純度品を得ることに比較して困難であったが、特殊な液化方法を採用したり、他の糖類の純度を高める際に多く利用されているクロマト分離法をマルトース又はマルチ

トールの製造工程に適用することにより、その困難さを軽減する試みがなされてきた。

高純度のマルトース又はマルチトールを得ようとする試みは多段報告されているが、それらの中でも代表的なものは以下の4種に大別される。
①第1の方法は、例えば、特開昭57-134498号公報に開示されているような、セアミラーゼで澱粉を胚D E (デキストロース当量)に液化した後、酸化液化液にターアミラーゼ及びイソアミラーゼも作用させて、マルトース含有率を得、更に必要に応じてこれを水温添加して高純度マルチトールを得る方法である。

②第2の方法は、特開昭57-209000号公報、同58-23799号公報、同61-87000号公報、同62-10210号公報等に開示されているような、グルコース含有量が少なく、マルトース純度75~85%程度（本明細書中、%とは固形分あたりの重量%を示す。以下単に純度ということがある。）のマルトースを主成分とする液化液の成分を、アルカリ金属過剰酸性カチオン交換樹脂でクロマト分離する

ことにより、例え93%以上の高純度マルトースを製造し、その後水温添加して高純度マルチトールにする方法である。

③第3の方法は、特開昭61-180797号公報に開示されているような、澱粉25~45%の澱粉乳を液化した後、液化条件を調整して液化し、マルトース純度50~80%以上の液化液を得、その後これを水温添加してからクロマト分離することにより高純度のマルチトールを製造する方法である。
④第4の方法は、特開昭63-101356号に組合されているような汎用性の高い酵素を特殊な組み合わせで使用する方法である。

(発明が解決しようとする課題)

しかしながら、既存の方法には多くの課題が残されており、工業的に有利に高純度のマルトース又はマルチトールを製造する方法として満足なものではなかった。

例えば、①に開示されている方法は、澱粉を液化する際のりこをできるだけ低く抑える必要がある。具体的には、高純度のマルトース又はマルチ

トールを得るためにDEを1以下、更に好ましくは、0.5~1.0にすることが要求される。

このDE値及びその後の工程中のDE値を消去するためには、原料澱粉を価値の高い地下澱粉（馬鈴薯澱粉等）に限定し、更に液化温度を20%以下と、通常のハイマルトースを製造する工程よりも低くする必要がある。

その結果、この方法は大量に生産・販売されているハイマルトースショップやグルコースショップの製造工程中の液化槽と比較して、非常に大きなものを必要とする。

また、大量の水を廻路する必要があるため、操作コストの増大を招くなどの欠点もあった。

②の方法は経済的に有利な地上澱粉も使用し得る方法であり、マルトースの純度を高める役を担っている工程は、マルトースとDP（糖の重合度）3以上、即ち、三糖以上のオリゴ糖とを分離する方法である。しかし、この方法は、特にマルトースとマルトリオースの分子量比が小さく、その他の分離に必要な性質の差異も小さいために、

特開平2-92296 (3)

分離が極めて困難である。

このため、容量の大きな分離塔を必要とし、分離に大量の溶出水を要することやその結果この水の処理費用がかさむことなどの不利益がある。

更に分離が困難なためにマルトース百分の中にグルコースなどの不純物が混入することが多く、マルトース純度が高くなりにくいという欠点もあった。

また、③の方針は、分離に供する液の組成がソルビトール、マルチトール、及びDP 3以上の大アルコールの混合物であり、これからマルチトールを生成成分とする部分を取り出すために8段式のクロマト分離装置を、極めて複雑な操作で用いている。

それにも拘らず、各糖成分の分離純度は不良であり、結果的に、マルチトールを生成成分とする部分にはマルトトリオースが8%前後混入している。

この方針は、DP 3以上の大アルコールが混入してくるので、その後のマルチトールの結晶析出

が阻害され、結晶化工程に長時間を要することやマルチトールの収率が低い結果を招くなどの不都合を生じている。

更に、分離に使用しているカルシウム型イオン交換体は、ソルビトールに対して極めて強い吸着力を有するので、その溶出がマルチトールやDP 3以上の糖アルコールに比較して著しく遅れ、その結果クロマト分離の際に原料糖液の約5倍の溶出量を必要とするという欠点もあった。

このことは、つまり、その後の濃縮工程で大量の水を濃縮、除去する必要があるということであり、工業的には極めて不利なことである。

次に、④の方針は汎用性の高い酵素を特許組み合わせて使用してはいるが、固形化工程で高価なグルコアミラーゼを比較的多量に使用する必要があることや、固形化終了時点でのマルトースの純度が比較的悪いこと、更に、酒元飲にクロマト分離工程が必要なためにこの工程を含まないプロセスに比べ、カラムから溶出する際に使う本によって工程中の固形分濃度が低くなってしまい、製

品化前にこの水を濾過させる必要があることから、経済的に不利であるという欠点を有していた。

以上のことから、クロマト分離をせずに、経済的に有利で、固形化終了時点でマルトース純度が高く、且つ工程の簡素な、高純度マルトース及びその選択的製造方法が切望されていた。

【課題を解決するための手段】

上記課題を解決するために、本発明者等は研究研究を積みた結果、バチルス・ステアロサーモフィルス (*Bacillus stearothermophilus*) の遺伝子のマルトゲニッカーアミラーゼがコードされた部分を組込んだプラスミドを組製して、更に、このプラスミドをバチルス・ズブティリス (*Bacillus subtilis*) に組込んで生産されたマルトゲニッカーアミラーゼ（以下単にこのものをマルトゲニッカーアミラーゼと言うことがある）を使用して特定の条件下で固形化することによって、経済的に有利で且つ簡素な高純度マルトースの製造方法を開発し、本発明を完成するに至った。

以下に本発明の内容を詳細に説明する。

本発明の目的は食品又は各種原材料として有用な高純度マルトース又は高純度マルチトールの有効な製造方法を提供することにある。

請求項1の本発明の工程は、1) 酵母を液化した後、ターアミラーゼ、イソアミラーゼ、ブルーナーゼからなる群の中から選ばれる2種以上の酵素を使用して固形分中のマルトース純度を70重量%以上に調整したのちに、マルトゲニッカーアミラーゼを添加して次式

$$\frac{(\text{三糖以上のオリゴ糖の})}{(\text{固形分重量})} \times 100 \leq 8 \\ (\text{二糖の}) + (\text{三糖以上の}) \\ (\text{固形分重量}) + (\text{オリゴ糖の}) \\ (\text{固形分重量})$$

の数倍を与えるまで液化する方法、つまり、乾燥品の酵素を組み合わせて使用することによりマルトース純度を70%以上にした後、マルトゲニッカーアミラーゼで三糖以上のオリゴ糖を選択的に加水分解して更にマルトースの純度を高めることにより構成される。

特開平2-92296 (3)

分離が極めて困難である。

このため、容量の大きな分離塔を必要とし、分離に大量の溶出水を要することやその結果この水の過剰費用がかさむことなどの不利益がある。

更に分離が困難なためにマルトース百分の中にグルコースなどの不純物が混入することが多く、マルトース純度が高くなりにくいという欠点もあった。

また、③の方針は、分離に供する液の組成がソルビトール、マルチトール、及びDP3以上の糖アルコールの複合物であり、これからマルチトールを主成分とする百分を取り出すために8段式のクロマト分離装置を、極めて複雑な操作で用いている。

それにも拘らず、各糖成分の分離精度は不良であり、結果的に、マルチトールを主成分とする部分にはマルトトリオキドが3%前後混入している。

この方針は、DP3以上の糖アルコールが混入してくるので、その他のマルチトールの結晶析出

が阻害され、結晶化工程に長時間を要することやマルチトールの收率が低い結果を招くなどの不都合を生じている。

更に、分離に使用しているカルシウム型イオン交換体は、ソルビトールに対して極めて強い吸着力を有するので、その溶出がマルチトールやDP3以上の糖アルコールに比較して著しく遅れ、その結果クロマト分離の際に原料純度の約3倍の溶出液を必要とするという欠点もあった。

このことは、つまり、その後の精練工程で大量の水を精絞、除塩する必要があるということであり、工業的には極めて不利なことである。

次に、④の方針は实用性の高い酵素を特殊な組み合わせて使用しておいるが、固形無化段階で高価なグルコアミラーゼを比較的多量に使用する必要があることや、無化終了時点でのマルトースの純度が比較的低いこと、更に、還元糖にクロマト分離工程が必要なためにこの工程を含まないプロセスに比べ、カラムから溶出する際に使う水によって工程中の固形分濃度が低くなってしまい、製

品化前にこの水を濾過させる必要があることから、經濟的に不利であるという欠点を有していた。

以上のことから、クロマト分離をせずに、經濟的に有利で、無化終了時点でマルトース純度が高く、且つ工程の簡素な、高純度マルトース及びその還元糖の製造方法が開発されていた。

(課題を解決するための手段)

上記課題を解決するために、本発明者等は研究研究を費ねた結果、バチルス・ステアロサーモモフィルス (*Bacillus stearothermophilus*) の遺伝子のマルトゲニッカーアミラーゼがコードされた部分を組込んだプラスミドを調製して、更に、このプラスミドをバチルス・ズブティリス (*Bacillus subtilis*) に組込んで生産されたマルトゲニッカーアミラーゼ（以下単にこのものをマルトゲニッカーアミラーゼと言ふことがある）を使用して特定の条件下で無化することによって、經濟的に有利で且つ簡素な高純度マルトースの製造方法を開発し、本発明を完成するに至った。

以下に本発明の内容を詳細に説明する。

本発明の目的は食品又は各種原材料として有用な高純度マルトース又は高純度マルチトールの有利な製造方法を提供することにある。

請求項1の本発明の工程は、1) 調和を無化した後、ダーリミラーゼ、イソアミラーゼ、ブルラナーゼからなる群の中から選ばれる2種以上の酵素を使用して固形分中のマルトース純度を70重量%以上に調整したのちに、マルトゲニッカーアミラーゼを添加して次式

$$\frac{(\text{三種以上のオリゴ糖の})}{(\text{固形分重量})} \times 100 \leq 8 \\ \text{二 種 の } + \frac{(\text{三種以上の})}{(\text{オリゴ糖の})} \times 100 \leq 8 \\ (\text{固形分重量}) \quad (\text{固形分重量})$$

の数値を考慮するまで無化する方法、つまり、既製品の酵素を組み合わせて使用することによりマルトース純度を70%以上にした後、マルトゲニッカーアミラーゼで三種以上のオリゴ糖を選択的に加水分解して更にマルトースの純度を高めることにより構成される。

特開平2-92296(4)

また、請求項2の本発明の工夫は上記1)と同様の処化工程を経た後に、得られた処化物を蒸発することにより構成される。

本発明の原料は、地上粉、地下粉の別を問わず使用可能であり、着色中のアセロースやアセロベクチンの組成も気にする必要はない。

本発明に使用可能な助剤を具体的に挙示すると、トウモロコシ澱粉、馬鈴薯澱粉、その他大麦、甘藷、タピオカなど由来の澱粉が挙げられる。

次に、これらの澱粉を液化するが、液化の方法や条件は特別に限定する必要はない。

然しながら、温度を高く保つことにより経済性を改善するためと、DEを比較的高くすることにより液化液の老化を防止するために、例えば落葉液度20~35%で、例えばノボ社のクーマイル(登録商標)などの耐熱液化酵素を使用して、ショットカッカー等の装置による液化を行い、DE5~15程度で液化酵素を失活させることが有利である。

更に、この液化液を55~60度で熟化するが、

その際にターキーラー、イソアミラーゼ、アルナーゼからなる群の中から選ばれる2種以上の酵素を使用する。

この糊化工程開始後マルトグリックーターキーラーゼを添加する前までの糊化の程度は、固形分中のマルトース純度が7.9質量%以上になるまで糊化することが、最終的に糊度の高いマルトース又はその還元物を製造するために有利である。

このとき使用する液化酵素は、ターキーラーゼとしては例えば長瀬工業製のターキーラーゼ#1500、フィンシュガー社製のスペサイム(SP-82VM2:登録商標)8041500などがあるが、それらの中でも大豆由来のターキーラーゼが本発明を実現するうえで有利な性質を有している。

また、アルナーゼとしてはノボ社のプロモザイムや天野製造販賣のブルナーゼアマノ(CRL等)が实用性が良いことや酵素の性質から有利である。

次に、マルトグリックーターキーラーゼを添加して下記の式

$$\frac{(\text{三糖以上のオリゴ糖})}{\text{固形分重量}} \times 100 \leq 8 \\ \frac{(\text{二糖の}) + (\text{三糖以上の})}{(\text{固形分重量}) + (\text{糊形分重量})}$$

を満たすまで糊化を行うが、本発明を実施する上で使用できるマルトグリックーターキーラーゼとしてはノボ社のマルトグリーゼがある。

その詳細な糊化条件は、温度60~60度、酵素添加量1~2.0g/L固形分(以下DSと略すことがある。)、約4.5~8.5程度であり、これにより、マルトース純度80~90質量%の高純度マルトースを得ることができる。

更に、前記のようにして得られた高純度マルトースを、それ自身は公知な方法で、固形式又は連続式の方法を採用し、ニッケル系又は銅金属系などの被膜の存在下で水素添加して高純度マルトール液にすることができる。

水素添加条件は、マルトースの分解が生じない条件であればどのような条件でも良いが、通常は液液の濃度を4.6~5.0質量%にして、水素圧

20kg/cm²以上で貯留させることが好ましく、5.0~20.0kg/cm²で、温度100~150度にて実施することが更に好ましい。

この水素添加後の未還元糖は既前に低減させる必要はないが、1%以下、更には0.5%以下にすることが、このものを利用加工する上で有利な特性を付与することが可能になるので好ましい。

得られた水素添加液は、必要に応じて油酸を酰化した後、更に必要なならば脱色、脱イオンなどの精製操作を経て製品とすることができる。

本発明の方法により得られる高純度マルトース又は高純度マルトールは、現在市販されているマルトース又はマルトールを主成分とする製品群の中では比較的高いマルトース又はマルトール純度を有するものであり、その成分組成は三糖以上のオリゴ糖又はオリゴ糖アルコール含有量が少ないので、クロマト分離法や品質分離法などの公知の方法で更にマルトース又はマルトールの純度を向上させたり、公知の方法で直接処理・精製化させることも容易に可能である。

特開平2-92296 (5)

(実施例)

次に本発明を実施例により更に具体的に説明するが、本発明は以下の実施例により限定されるものではない。

実施例-1

(工程-1) トウモロコシ澱粉を濃度32%、DMSOに溶解し、脂肪酸化酵素〔亞硫酸鈉錠製、スピーカーE9〕2.0g/g DMSOを添加してジュットクリッカーにて105°Cで液化した。液化酵素を失活させることによりDE12にて液化を停止した。

(工程-2) 次に、液化液を55.5に調整し、濃度5.1にて1.0g/g DMSOのフィンシュガーナイフのスペザイムBBA1500及び1g/g DMSOのノボ社製アルナーゼ、プロモザイム1L 200Lを添加して液化反応を進め6時間目に液化酵素スピーカーE9を2.0g/g DMSO添加して合計3.6時間液化反応を行った。液化開始後3.6時間目の糖組成を高速液体クロマトグラフィーにて分析した結果は次の通りであった。

(一糖	14.7%
(四糖以上のオリゴ糖	4.1%

更に

マルチゲナーゼの溶解量を5.0g/g DMSOに変更した以外は実施例1の工程-1と同様に操作して以下の糖組成を有する高純度マルトースを得た。

(一糖	5.5%
(二糖	88.9%
(三糖	1.6%
(四糖以上のオリゴ糖	4.0%

実施例-5

実施例-1で得た高純度マルトース-①を常法に従って脱色、脱塩、濃縮して濃度50%の液状糖液とし、その2.0kgとラネーニックル触媒200gを内容積25.9リットルのオートクレーブに仕込み、水蒸圧を120kg/cm²に保ち、120°Cにて2時間保持して水素還元を行った。得られた反応液を過濾と分離し、粒状活性炭のカラムを通過した後、高速液体クロマトグラフィーにて分析した結果は

(一糖	1.0%
(二糖	72.8%
(三糖	21.2%
(四糖以上のオリゴ糖	5.0%

(工程-3) 次いで、マルチゲニッカーヨーアミラーゼ(ノボ社製、マルチゲナーゼ)10g/g DMSOを添加して更に3.6時間反応を続け高純度マルトース-①を得た。反応終了後の糖組成を高速液体クロマトグラフィーにて分析した結果は次の通りであった。

(一糖	9.8%
(二糖	84.1%
(三糖	1.9%
(四糖以上のオリゴ糖	4.2%

実施例-2

トウモロコシ澱粉の濃度を25%に液化DEを6に変更した以外は実施例1の工程-1及び2と同様に操作して以下の糖組成の液を得た。

(一糖	0.7%
(二糖	80.5%

以下の通りであった。

ソルビトール	10.3%
マルチトール	83.9%
三糖以上のオリゴ糖アルコール	5.9%

実施例-4

実施例-2で得た高純度マルトース-①を常法に従って脱色、脱塩、濃縮して濃度50%の液状糖液とし、実施例-3と同様に水素添加し、その後の精製操作の後、高速液体クロマトグラフィーにて分析した結果は以下の通りであった。

ソルビトール	5.7%
マルチトール	88.5%
三糖以上のオリゴ糖アルコール	5.8%

(発明の効果)

以上の記載から明らかのように、本発明により、脱用酵素及びマルチゲニッカーヨーアミラーゼを特定の条件下で使用し、各工程を実施することにより、容易な操作で高純度マルトース又はマルチトールを收率良く得ることができる。

JP02092296

**Prodn. of high purity maltose and maltitol - using amylase, prod. by bacillus subtilis
contg. plasmid from B. stearothermophilus, and liq. starch**

Patent Assignee: TOWA KASEI KOGYO KK

Patent Family								
Patent Number	Kind	Date	Application Number	Kind	Date	Week	Type	
JP 2092296	A	19900403	JP 88242387	A	19880929	199019	B	
JP 2696534	B2	19980114	JP 88242387	A	19880929	199807		

Priority Applications (Number Kind Date): JP 88242387 A (19880929)

Patent Details					
Patent	Kind	Language	Page	Main IPC	Filing Notes
JP 2092296	A		5		
JP 2696534	B2		5	C12P-019/14	Previous Publ. patent JP 2092296

Abstract:

JP 2092296 A

Prodn. of high purity maltose comprises adding maltogenic' alpha-amylase (I) to starch, which has been liquefied and prep'd. to be at least 70 wt.% in fineness of maltose in solid by using at least two of beta-amylase, isoamylase and pullulanase, to saccharify it to (B)/((A)+(B)) less than 8% where (A) = wt. of solid disaccharide; (B) = wt. of solid oligosaccharide composed of at least trisaccharide. (I) is prep'd. by embedding plasmid, in which maltogenic alpha-amylase code of gens of Bacillus stearothermophilus has been embedded, in Bacillus subtilis.

High purity maltitol soln. is prep'd. by reduction, pref. bis hydrogenating high purity maltose (I) with nickel or noble metallic catalyst.

USE/ADVANTAGE - High purity maltose or maltitol is produced efficiently by the simple operation. (5pp Dwg.No.0/0)

Derwent World Patents Index

© 2004 Derwent Information Ltd. All rights reserved.

Dialog® File Number 351 Accession Number 8257907